# 垂序商陆及胜红蓟提取物对降香黄檀炭疽病菌的抑菌机理研究

周洁尘， 周国英， 刘君昂*， 何苑皞， 董文统

（中南林业科技大学，森林有害生物防控湖南省重点实验室；经济林培育与保护省部共建教育部重点实验室，长沙 410004）

**摘要** 通过测定垂序商陆与胜红蓟乙酸乙酯提取物处理后的降香黄檀炭疽病菌内丙二醛含量、蛋白质含量以及4种酶活性，来初步判断垂序商陆与胜红蓟提取物对炭疽病菌的作用机理。结果表明：两种提取物都能在一定程度上破坏炭疽病病原菌膜系统，垂序商陆处理组丙二醛含量在56 h后显著提高，胜红蓟处理组则缓慢增加，略高于对照组；垂序商陆处理组菌体内蛋白质含量先增加，32 h后急剧降低，胜红蓟处理组蛋白质含量从初期开始就少于对照组；两种提取物都能影响菌体的保护性酶活性，两处理组SOD活力都呈现先增高后降低的趋势，CAT活力高于对照组。两组SDH、LDH活力都小于对照组，而垂序商陆处理组SDH、LDH活力小于胜红蓟处理组。初步说明两种植物提取物可通过影响病原菌的代谢系统和生理过程来发挥其抑菌作用。

**关键词** 植物提取物； 降香黄檀； 炭疽病菌； 抑菌机理

**中图分类号：** S 763.15 **文献标识码：** A **DOI：** 10.3969/j.issn.0529 - 1542.2017.04.008

# Antifungal mechanisms of the ethyl acetate extracts from *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* against *Colletotrichum gloeosporioides* of *Dalbergia odorifera*

Zhou Jiechen， Zhou Guoying， Liu Jun'ang， He Yuanhao， Dong Wentong

（*Hunan Provincial Key Laboratory for Control of Forest Diseases and Pests*；*Key Laboratory of Cultivation and Protection for Non-wood Forest Trees of Ministry of Education*，*Central South University of Forestry and Technology*，*Changsha* 410004，*China*）

**Abstract** To judge the action mechanism of ethyl acetate extracts from *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* against *Colletotrichum gloeosporioides*，the MAD content，protein content and the activity of 4 kinds of enzymes of the pathogen treated with the extracts were measured. The results showed that the membrane system of the pathogen could be partly destroyed by the extracts of 2 plants；the MDA content of the pathogen treated with the extract of *P. americana* increased significantly 56 h later，and the MDA content of the pathogen treated with the extract of *A. conyzoides* increased slowly，slightly higher than the control group. The protein content of the pathogen treated with the extract of *P. americana* increased 32 h after treatment，and then decreased rapidly. The protein content of the pathogen treated with the extract of *A. conyzoides* was less than that of the control group from the beginning on. The activity of protective enzymes was affected by the extracts of both plants. The SOD activity tended to increase firstly and decrease subsequently，and the CAT activity of the two groups was higher than that of their control group. The SDH and LDH activity was inhibited by the extracts of both plants，while the inhibitory effect of *P. americana* extracts was stronger than that of *A. conyzoides* extracts. In addition，it was found that the two extracts could destroy the metabolic pathways and affect the physiological function of the pathogen，which might be the reason why the extracts could inhibit *C. gloeosporioides*.

**Key words** plant extract； *Dalbergia odorifera*； *Colletotrichum gloeosporioides*； antifungal mechanism

**收稿日期：** 2016 - 06 - 29 **修订日期：** 2016 - 08 - 29

**基金项目：** "十三五"国家重点研发计划(2016YFD0600601-1)；国家林业公益性行业科研专项(201304402)

* 通信作者 E-mail：csuftfp@163.com

由胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 引起的炭疽病作为降香黄檀 *Dalbergia odorifera* 的最主要病害之一,在海南发生严重,常常大面积暴发,尤其是在降香黄檀人工纯林中。炭疽病菌可以导致植株叶片穿孔或逐渐干枯,甚至脱落,严重影响了植株的光合作用,从而影响到降香黄檀芯材的形成,造成极大的经济损失[1-3]。目前国内对降香黄檀炭疽病主要靠经验采用化学药剂进行防治,常用药剂有多菌灵、代森锰锌、甲基硫菌灵、中生菌素、吡唑醚菌酯与代森联的混剂、百菌清等[4-7]。针对降香黄檀炭疽病生物源药剂的研究较少,尤其是研究植物提取物对病原菌的抑菌机理。而植物源杀菌剂的作用机理研究大多数是直接将植物提取物作用于病原菌,测定其对菌丝生长以及孢子产生的抑制程度。垂序商陆 *Phytolacca americana* 及胜红蓟 *Ageratum conyzoides* 乙酸乙酯提取物对降香黄檀炭疽病菌均有一定的抑菌作用[8],目前国内外尚无报道垂序商陆及胜红蓟对降香黄檀炭疽病菌的抑菌机理。

在前期的研究中,本实验室从 13 种海南入侵植物中筛选到 2 种对降香黄檀炭疽病菌有良好抑菌效果的植物垂序商陆和胜红蓟,并在研究了 2 种植物提取物处理下病原菌菌丝生长过程、菌丝形态变化等的基础上[8],通过将垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物直接作用于降香黄檀炭疽病菌,测定了病原菌生理指标以及代谢途径中关键酶系统,从病原菌代谢等方面来研究垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物的抑菌机理,这对垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物在生物防治领域中的应用具有重要的指导意义,为我国研发新的生物农药提供支持,丰富我国生物农药领域的研究。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料

供试菌种:为本实验室从海南省澄迈国营林场的降香黄檀炭疽病病叶中分离的胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides*。

供试植物:胜红蓟、垂序商陆采自海南省澄迈国营林场。

### 1.2　方法

#### 1.2.1　垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物的制备

将垂序商陆与胜红蓟洗净后置于干燥通风处阴干至恒重,放入粉碎机中粉碎,过 40 目筛。得到粉末置于 40℃烘箱中 24 h 后密封保存。

采用冷浸法进行垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物的制备[9],以乙酸乙酯作为提取溶剂,固液比为 1∶10,室温下浸泡 3 次,每次间隔时间 3 d,收集 3 次滤液进行旋转蒸发,干燥得到粗提物。加入适量无水乙醇溶解,再加蒸馏水,使乙醇浓度为 10%,粗提物浓度为 100 mg/mL。置于冰箱内冷藏备用。

#### 1.2.2　降香黄檀炭疽病菌菌体上清液的制备

准备一定量加有 30 mL 已灭菌 PD 培养基的三角瓶,接入降香黄檀炭疽病菌。于 28℃,160 r/min 振荡培养 6 d 后,分别加入垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物使终浓度分别为 3.413 mg/mL 和 5.849 mg/mL[8],以不加药为对照,继续培养,在 2、4、6、8、10、12 h 后以及之后的每隔 12 h 取出一个三角瓶。称取一定量菌丝,在−20℃冰箱中冷冻过夜后加入 5 倍体积的 0.01 mol/L Tris-HCl(pH 8.0)以及适量石英砂,在液氮下研磨成浆。在 4℃、5 000 r/min 的条件下离心 10 min,取上清液,在−20℃条件下冷冻保存。

#### 1.2.3　垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物对炭疽病菌内丙二醛含量的影响测定

丙二醛(MDA)含量是常用的衡量膜脂过氧化程度的一个非常重要的生理指标,可以与硫代巴比妥酸(TBA)反应生成红棕色的三甲川(3,5,5-三甲基恶唑-2,4-二酮)。MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法测定[10]。

取 2 mL 上清液与 2 mL 0.67%硫代巴比妥酸混合,100℃水浴煮沸 30 min,冷却后离心,测定上清液分别在波长 450、532、600 nm 处的吸光度值,每处理重复 3 次。三甲川最大的吸收波长在 532 nm。但由于测定丙二醛含量的过程中易受多种物质干扰,最主要的是可溶性糖,所以为了消除糖类物质对反应的干扰,丙二醛浓度按下述公式计算:$C(\mu mol/L)=6.45(A_{532}-A_{600})-0.56\ A_{450}$。

#### 1.2.4　垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物对炭疽病菌内蛋白质含量的影响测定

为研究垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物对降香黄檀炭疽菌内蛋白质含量及合成是否有影响,采用考马斯亮蓝 G-250 比色法[11]对 2、4、6、8、10、12 h 后以及之后每隔 12 h 的菌体进行蛋白质含量的测定。

标准曲线绘制:试验采用牛血清蛋白(BSA)作

用标准蛋白。准确称取 10 mg BSA，用少量的去离子水溶解后定容至 10 mL，制成浓度为 1.00 mg/mL 的原液。分别取 1.0、0.8、0.6、0.4、0.2 mL 原液于不同具塞试管中，再分别加入 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8 mL 去离子水使总体积为 1.0 mL。分别在各试管中加入 5.0 mL 配好的考马斯亮蓝 G-250 反应液，振荡均匀后放置 2 min，然后在 595 nm 处测定吸光值，以去离子水加反应液为空白对照。重复试验 3 次，以蛋白质浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

菌体蛋白含量的测定：准确吸取 0.1 mL 各处理样品，分别置于 10 mL 具塞试管中，然后加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 反应液，振荡混匀后放置 2 min，然后在 595 nm 处测定吸光值，再根据标准曲线查得菌体上清液中蛋白质浓度，重复试验 3 次，求得平均每克菌体中蛋白质含量。

#### 1.2.5 垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物对炭疽病菌各类酶活力的影响测定

分别测定垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物处理的降香黄檀炭疽病病原菌体内的超氧化歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、琥珀酸脱氢酶(SDH)以及乳酸脱氢酶(LDH)活力[12-15]。利用已制备好的菌体上清液，按照试剂盒操作步骤分别测定 4 种酶的活力，各进行 3 次试验。SOD、CAT、SDH 以及 LDH 活力测定均采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒。

## 2 结果与分析

### 2.1 垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内丙二醛含量的影响

图 1 为垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物处理后的降香黄檀炭疽病菌内丙二醛含量随时间变化情况。从图 1 可以看出，与对照组相比垂序商陆乙酸乙酯提取物处理组丙二醛含量在 56 h 前基本无变化，56 h 后丙二醛含量大幅增加，在 68 h 时丙二醛含量达到最大，为 2.041 μmol/L。这说明在 56 h 前降香黄檀炭疽病菌细胞膜脂过氧化程度不高，对垂序商陆乙酸乙酯提取物具有较好的耐受力，56 h 后膜脂过氧化严重，膜系统遭到破坏。而胜红蓟乙酸乙酯提取物处理组的丙二醛含量随时间的推移缓慢增加，这说明降香黄檀炭疽病菌对胜红蓟乙酸乙酯提取物具有一定的耐受力，但初期就开始受到影响。

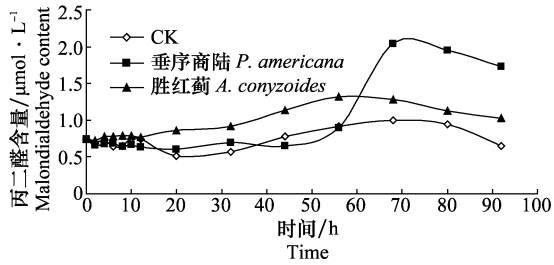


图 1 垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内丙二醛含量的影响

Fig. 1 Effects of *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* extracts on the MDA content of *Colletotrichum gloeosporioides*

### 2.2 垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内蛋白质含量的影响

图 3 显示，垂序商陆乙酸乙酯提取物处理后降香黄檀炭疽病菌体内蛋白质含量在 32 h 前呈不断增加，32 h 时蛋白质含量达 5.311 mg/g，32 h 后急剧下降然后又呈缓慢增加趋势。初期蛋白质含量的升高可能是由于菌体进入恶劣环境，启动了自身某些保护机制，保护性酶等大量合成，蛋白质合成增加，而后随着膜脂氧化程度增加，细胞膜遭到破坏等原因导致蛋白质含量降低。胜红蓟乙酸乙酯提取物对降香黄檀炭疽病菌体内蛋白质含量与对照组相比整体呈现一定的抑制作用，可能的原因是提取物中含有某种抑制降香黄檀炭疽病菌体内蛋白质合成的成分。

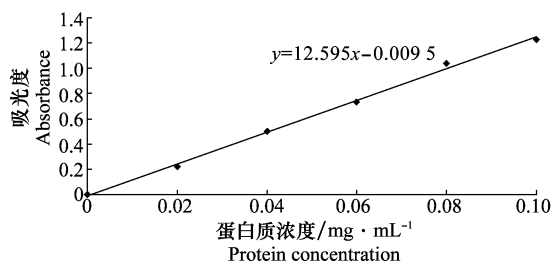


图 2 蛋白质浓度测定标准曲线

Fig. 2 Standard curve of protein concentration

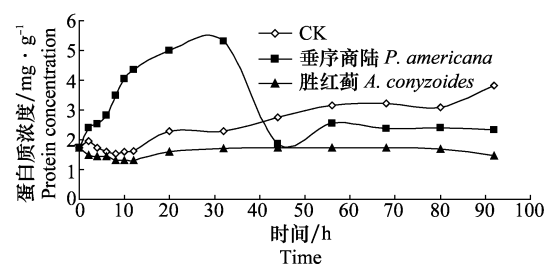


图 3 垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内蛋白质含量的影响

Fig. 3 Effects of *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* extracts on protein concentration of *Colletotrichum gloeosporioides*

## 2.3　垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内各类酶活力的影响

### 2.3.1　提取物对炭疽病菌体内超氧化物歧化酶活力的影响

超氧化物歧化酶在生物体内的水平高低是衰老与死亡的直观指标。图 4 显示,对照组 SOD 活力相对较稳定,垂序商陆乙酸乙酯提取物处理后的降香黄檀炭疽病菌体内 SOD 活力呈现先升高后降低的趋势,在培养 32 h 后达到峰值,达 42.5 U/(g·min)。这说明微生物在提取物的逆境胁迫下,前期 SOD 增加从而保护菌体,消除新陈代谢产生的有害物质,但后期由于氧自由基的增加和膜脂过氧化的加重等原因最终导致酶含量的降低。胜红蓟乙酸乙酯提取物处理组也呈现相同的趋势,但 SOD 活力在培养 20 h 后达到峰值,为 39.6 U/(g·min),随后开始下降并维持在较低的水平,仅 4 U/(g·min)。

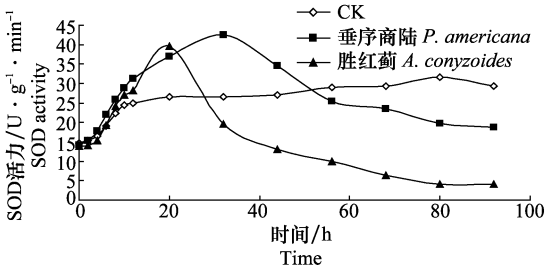


**图 4　垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内超氧化物歧化酶活力的影响**

**Fig. 4　Effects of *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* extracts on the SOD activity of *Colletotrichum gloeosporioides***

### 2.3.2　提取物对炭疽病菌体内过氧化氢酶活力的影响

过氧化氢酶是生物体防御系统的关键酶之一,催化细胞内过氧化氢的分解。图 5 可以看出,对照组的 CAT 一直维持在较低水平,说明细胞内过氧化氢含量不多。垂序商陆乙酸乙酯提取物处理组菌体内的 CAT 水平不断增加以保护细胞免受过氧化氢的毒害,说明在垂序商陆提取物的逆境胁迫下,微生物的过氧化氢含量增多,由于过氧化氢是超氧化歧化酶反应产物之一,所以这与氧自由基的增加和超氧化歧化酶水平的增高也有一定关系。胜红蓟乙酸乙酯提取物处理组菌体内 CAT 水平先升高后降低,在 32 h 时达到峰值,这可能是由于前期为消除新陈代谢产生的过氧化氢,CAT 水平增高,但后期由于超氧化物歧化酶的逐渐降低以及膜脂过氧化严重等原因导致了 CAT 水平的降低。

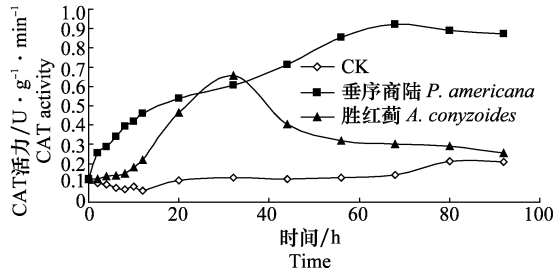


**图 5　垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内过氧化氢酶活力的影响**

**Fig. 5　Effects of *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* extracts on the activity of CAT of *Colletotrichum gloeosporioides***

### 2.3.3　提取物对炭疽病菌体内琥珀酸脱氢酶活力的影响

琥珀酸脱氢酶是三羧酸(TCA)循环中的两个重要氧化还原酶之一,以 FAD 作为其脱下电子的受体,可影响整个三羧酸循环的正常运作。图 6 为垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物处理后的降香黄檀炭疽病菌内 SDH 活力随时间的变化情况。结果显示,空白对照组中病原菌体内的 SDH 活力在 44 h 前呈升高趋势,随后降低,菌体在经过一段时间的强呼吸作用后慢慢趋于平衡。而垂序商陆乙酸乙酯提取物处理组 SDH 活力远远小于对照组,并随处理时间的延长而下降到较低水平,这可能是由于垂序商陆乙酸乙酯提取物抑制或破坏了病原菌菌丝体细胞内的 SDH,使整个三羧酸循环停滞,从而抑制病原菌的生长。胜红蓟乙酸乙酯提取物处理组的 SDH 活力也小于对照组,并在初期有增高的趋势,但很快就降低了,这说明胜红蓟乙酸乙酯提取物对 SDH 的抑制及破坏作用时间较长,且抑制效果差于垂序商陆乙酸乙酯提取物。

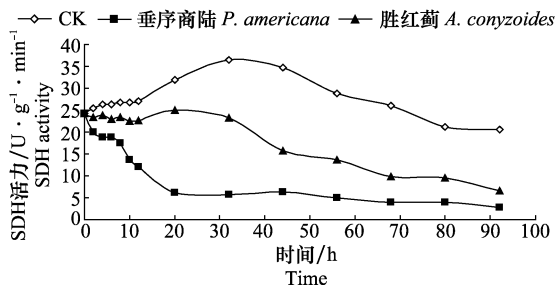


**图 6　垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内琥珀酸脱氢酶活力的影响**

**Fig. 6　Effects of *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* extracts on the activity of SDH of *Colletotrichum gloeosporioides***

### 2.3.4　提取物对炭疽病菌体内乳酸脱氢酶活力的影响

乳酸脱氢酶是糖酵解途径中生物氧化的关键

酶，能够催化乳酸与丙酮酸相互转化，图 7 显示，降香黄檀炭疽病菌在生长过程中，LDH 活力随培养时间的延长而缓慢降低。垂序商陆乙酸乙酯提取物处理组病原菌体内的 LDH 活力远小于对照组，并随时间推移下降到较低水平，这说明垂序商陆乙酸乙酯提取物可能通过抑制菌体内 LDH 的合成或者破坏菌体内 LDH 对菌体细胞的糖酵解途径产生严重干扰。而胜红蓟乙酸乙酯提取物对菌体内的 LDH 影响程度低于垂序商陆乙酸乙酯提取物，这可能也是胜红蓟乙酸乙酯提取物抑菌活性差于垂序商陆乙酸乙酯提取物的原因之一。

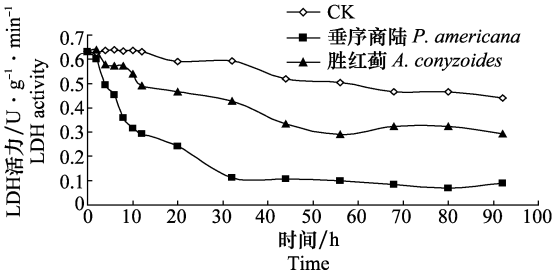


**图 7 垂序商陆及胜红蓟提取物对炭疽病菌体内乳酸脱氢酶活力的影响**

**Fig. 7 Effects of *Phytolacca americana* and *Ageratum conyzoides* extracts on the activity of LDH of *Colletotrichum gloeosporioides***

## 3 讨论

生物体内丙二醛含量是衡量膜脂过氧化程度的一个非常重要的生理指标，是在逆境条件下发生膜脂过氧化反应的产物之一，其含量高低表示细胞膜脂过氧化程度和生物对逆境条件耐受能力的强弱。本试验通过测定丙二醛含量发现两种植物乙酸乙酯提取物都能在一定程度上破坏降香黄檀炭疽病菌的膜系统，从而在一定程度上导致蛋白质含量的变化。

SOD 是生物体中最重要的抗氧化酶，能够催化超氧化物通过歧化反应转化为 $O_2$ 和 $H_2O_2$，消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质，保护细胞免受氧自由基的伤害并保持细胞膜的柔软健康。CAT 也是生物防御体系的关键酶之一，清除 SOD 的歧化产物 $H_2O_2$ 分解成为分子氧和水，使得 $H_2O_2$ 不至于与 $O_2$ 在铁螯合物作用下反应生成非常有害的-OH，保护细胞免受毒害。国内外研究表明[16-18]，生物体发病或生长不良初期，自由基大幅产生并引起氧化应激，影响蛋白质表达等调节、应答机制。而在自由基的诱导下，细胞会诱导性地增强抗氧化能力，一般会出现 SOD 水平增高现象。但随着高浓度自由基对 SOD 的大量消耗以及机体的调节机制，SOD 的生物合成能力很快回落到低水平，并与较高浓度的自由基保持新的动态平衡。本试验中两种植物提取物处理组中 SOD 活力的变化也出现与之相同的趋势。SDH 是三羧酸循环的关键酶之一，催化琥珀酸脱氢生成黄素腺嘌呤二核苷酸和延胡索酸，是连接氧化磷酸化与电子传递的枢纽之一，可以为细胞需氧和产能的呼吸链提供电子，其活性可以作为评价三羧酸循环运行程度的指标。而 LDH 作为糖酵解途径中生物氧化的关键酶，催化乳酸与丙酮酸相互转化，其变化可以影响整个糖酵解过程。本试验中病原菌体内的丙二醛含量、保护性酶以及代谢关键酶都受到植物提取物的影响，可以初步判断垂序商陆乙酸乙酯提取物和胜红蓟乙酸乙酯提取物对病原菌的抑菌作用方式。

不同植物杀菌有效成分对微生物的作用位点不同，抑制真菌菌丝生长、孢子的产生或萌发、附着胞形成及侵入丝的形成；干扰细菌细胞壁合成、抑制核复制和转录、抑制蛋白质的合成等。如张国珍等[19]从麻黄和细辛中提取的麻黄油和细辛油可抑制人参链格孢分生孢子和薏苡黑粉菌冬孢子萌发。杨帮[20]通过观察美洲商陆提取物对柑橘绿霉病菌菌丝的作用过程，发现美洲商陆能明显抑制绿霉病菌菌丝生长，产生畸形，分支间距缩短。本试验初步探索了垂序商陆及胜红蓟乙酸乙酯提取物的抑菌机理，了解了这两种提取物对降香黄檀炭疽病菌体内关键酶的影响，但对其具体的作用位点并未进行研究，今后有必要加深这方面的研究。

## 参考文献

[1] 伍慧雄，庄雪影，温秀军，等. 降香黄檀病虫害调查[J]. 广东林业科技，2009，25(6)：86－88.

[2] 桑利伟，刘爱勤，孙世伟，等. 海南降香黄檀炭疽病病原鉴定及防治[J]. 热带农业科学，2009，29(8)：23－25.

[3] 董文统，刘君昂，周国英，等. 海南省乡土树种病虫害发生现状[J]. 中南林业科技大学学报(自然科学版)，2014，34(6)：55－60.

[4] 李大周，曾祥全. 海南黄花梨栽培技术[M]. 海口：三环出版社，2007.

(下转 60 页)

佳[20]。因此，所制备的复配农药微球两种活性成分释放量接近最佳复配剂量比，能够达到增效和持效的目的。

## 参考文献


[1] 朱欣妍，尹明明，陈福良. 甲维盐聚乳酸微球缓释性能及室内毒力的初步测定[J]. 农药，2013，52(9)：653－655.

[2] 宋思思，夏姣，王宁，等. 噻虫嗪-高效氯氰菊酯复配农药微胶囊的制备与性能[J]. 农药，2016，55(1)：22－25.

[3] 徐建强，杨改凤，田娟，等. 三类杀菌剂对牡丹腔孢叶斑病菌生长和发育的影响[J]. 植物保护，2016，42(5)：86－91.

[4] 宋根苗，蒋家珍，邱立红，等. 噻霉酮和苯醚甲环唑混配对 4 种不同病原菌的增效作用[J]. 植物保护，2012，38(4)：171－174.

[5] 刘艳萍，王思威，刘丰茂，等. 四种常用三唑类杀菌剂在香蕉上残留行为及使用评价研究[J]. 植物保护，2014，40(5)：100－105.

[6] 侯颖，徐建强，宋宇州，等. 三种杀菌剂对牡丹黑斑病病菌菌丝生长及分生孢子萌发的影响[J]. 植物保护学报，2014，41(3)：367－372.

[7] 罗湘仁，李敏，马超，等. 28%苯甲·嘧菌酯悬浮种衣剂的研制[J]. 农药，2012，51(4)：264－266.

[8] Gustafsson K，Blidberg E，Eifgren I K，et al. Direct and indirect effects of the fungicide azoxystrobin in outdoor brackish water microcosms [J]. Ecotoxicotogy，2010，19(2)：431－444.

[9] Mu Xiyan，Pang Sen，Sun Xingze，et al. Evaluation of acute and developmental effects of difenoconazole via multiple stage zebrafish assays [J]. Environmental Pollution，2013，175(4)：147－157.

[10] 张国福，李本杰，王金花，等. 不同剂型苯醚甲环唑和嘧菌酯及其原药对斑马鱼的急性毒性评价[J]. 农业环境科学学报，2014，33(11)：2125－2130.

[11] 梁宁宁，熊祖江，王锐，等. 聚左旋乳酸/聚丁二酸丁二醇酯共混物的结构与性能[J]. 高分子材料科学与工程，2016，32(3)：48－53.

[12] Babur R P，O'Connor K，Seeram R. Current progress on bio-based polymers and their future trends [J]. Progress in Biomaterials，2013，2(8)：1－16.

[13] 朱锐，杨琛，喻湘林，等. 基于改性 PBS 载体的噻虫嗪微胶囊的制备及性能测试[J]. 农药，2013，52(5)：334－336.

[14] 毕秋艳，杨晓津，马志强，等. 葡萄霜霉病有效药剂筛选及药效评价[J]. 植物保护，2014，40(3)：199－203.

[15] 李金堂，李保华，李宝笃，等. 几种杀菌剂防治梨黑星病的持效期的研究[J]. 莱阳农学院学报，2004，21(1)：37－39.

[16] Hong K，Nakayama K，Park S. Enhanced mechanical properties and degradability of poly (butylene succinate) and poly (lactic acid) blends [J]. European Polymer Journal，2002，38：305－311.

[17] Lalit K T，Mohan L K. Development and *in-vitro* characterization of lornoxicam loaded ethyl cellulose microspheres prepared by emulsion solvent evaporation method [J]. African Journal of Pharmacy and Pharmacology，2014，8(9)：277－285.

[18] 周训卿，曹立冬，刘亚静，等. 嘧菌酯微囊的制备及其性能表征[J]. 农药学学报，2014，16(2)：213－219.

[19] Jégat C，Taverdet L J. Stirring speed influence study on the microencapsulation process and on the drug release from microcapsules [J]. Polymer Bulletin，2000，44(3)：345－351.

[20] 范子耀，王文桥，孟润杰，等. 7 种杀菌剂对马铃薯早疫病菌室内毒力及田间防效[J]. 农药，2011，50(7)：531－533.


（责任编辑：田　喆）

（上接 50 页）


[5] 孟慧，杨云，冯锦东. 降香黄檀引种栽培现状与发展[J]. 广东农业科学，2010，37(7)：79－80.

[6] 刘洪湾，李际，林秀莲. 海南降香黄檀病虫害调查与防治[J]. 农业灾害研究，2011，1(2)：32－33.

[7] 李青春. 降香黄檀的培育及栽育苗技术[J]. 吉林农业，2012，(2)：163－164.

[8] 周洁尘，刘君昂，何苑皖，等. 13 种海南入侵植物提取物对降香黄檀炭疽病菌的抑制作用[J]. 植物保护，2015，41(5)：54－60.

[9] 孟昭礼，罗兰，尚坚，等. 人工模拟杀菌剂绿帝对 8 种植物病原菌的室内生测[J]. 莱阳农学院学报，1998，15(3)：159－162.

[10] Suárez M B，Sanz L，Chamorro M I，et al. Proteomic analysis of secreted proteins from *Trichoderma harzianum* identification of a fungal cell wall-induced aspartic protease [J]. Fungal Genetics and Biology，2005，42 (8)：924－934.

[11] 何静. 苍耳提取物对有害生物抑制机理的研究[D]. 兰州：甘肃农业大学，2005.

[12] 宋瑞清，冀瑞卿. 四种毒蘑菇菌株及其毒素对杨树烂皮病菌生长的抑制作用[J]. 北京林业大学学报，2005，27(2)：88－91.

[13] 王储炎. 鹿蹄草提取物的抑菌作用和应用研究[D]. 重庆：西南大学，2007.

[14] 李丽萍. 紫茎泽兰提取物对细菌的抑制作用及抑菌机理的研究[D]. 北京：北京林业大学，2010.

[15] 蒋继宏，吴薇，曹小迎，等. 苦豆碱对杨小舟蛾体内保护酶系统活力的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版)，2005，29(5)：91－93.

[16] 李冲伟. 菌株 T-33 抑菌活性物质及其对杨树烂皮病菌的抑制机理[D]. 哈尔滨：东北林业大学，2012.

[17] Suhaila M，Suzana S S，Ei S，et al. Antimycotic screening of 58 malaysian plants against plant pathogens [J]. Pesticide Science，1997，47：259－264.

[18] 计红芳. 防治杨树叶枯病的毒蘑菇菌株筛选及其生防机理研究[D]. 哈尔滨：东北林业大学，2008.

[19] 张国珍，樊瑛，丁万隆，等. 麻黄和细辛挥发油的抗真菌作用[J]. 植物保护学报，1995，22(4)：373－374.

[20] 杨帮. 中药植物美洲商陆抗菌活性及作用机理研究[D]. 重庆：西南农业大学，2005.


（责任编辑：田　喆）